

**Untersuchungen über den Einfluß von
Röntgenstrahlen auf den Gehalt einiger
Phosphatverbindungen im
Meerschweinchenmyocard**

von

Michael Köhler
—

1976
—

Aus der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie
und Röntgendiagnostik (Dir.Prof.Dr.F.Heß) im Radio-
logiezentrum (Direktoren: Prof.Dr.Dr.E.H.Graul und
Prof.Dr.F.Heß) der Universität Marburg

Untersuchungen über den Einfluß von Röntgenstrahlen
auf den Gehalt einiger Phosphatverbindungen im
Meerschweinchenmyocard

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg



vorgelegt von
Michael Köhler
aus Marburg

Marburg 1975

Angenommen von dem Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Dekan: Prof. Dr. H. Oepen
Referent: Prof. Dr. F. Heß
Correferent: Prof. Dr. H.G. Grundner

Tag der mündlichen Prüfung: 20. 2. 1976



Untersuchungen über den Einfluß von Röntgenstrahlen auf den Gehalt einiger Phosphatverbindungen im Meerschweinchenmyocard

I. Einleitung

=====

Die energiereichen Phosphate dienen als Quelle der chemischen Energie, die im Muskelgewebe in mechanische Arbeit umgewandelt wird. Im Myocard wird ihre Energie nicht nur für die systolische Faserverkürzung, sondern auch zur Aufrechterhaltung eines kontraktilen Grundtonus benötigt (Fleckenstein, 1968).

Die eigentliche Aktionssubstanz stellt das Adenosin-triphosphat (ATP) dar (Carlson und Siger 1960), während Kreatinphosphat (KrP) mehr eine Energiereserve ist, die jederzeit in Anspruch genommen werden kann um ATP durch Übertragung einer Phosphatgruppe auf ADP schnell zu regenerieren (Karlson 1970).

Dem anorganischem Phosphat (Pa) wird eine entscheidende Rolle bei der Steuerung der anaeroben Energiegewinnung im Myocard beigemessen (Krause u. Wollenberger 1966).

Die Bedeutung der energiereichen Phosphate wird

besonders bei tierexperimentell erzeugten Herzinsuffizienzen hervorgehoben, die biochemisch entweder durch den Zusammenbruch der KrP-Fraktion unter gleichzeitigem Anstieg des anorganischen Phosphates charakterisiert sind, oder denen eine ungenügende Utilisation der energiereichen Phosphate zu Grunde liegt (Fleckenstein u. Mitarbeiter 1959 und 1967; Kammermeier, Döring und Schildberg 1964).

Bei zunehmender Druck-Volumenarbeit der Ventrikelmuskulatur kommt es zu einem charakteristischem Absinken der KrP-Bestände, während das Orthophosphat hierzu reziprokes Verhalten zeigt. Die Bestände an ATP sinken erst im Insuffizienzbereich ab (Hochrein 1960 und 1968).

Auch Nägle (1970) beschreibt die Bedeutung der KrP- und ATP-Konzentration für die Energiebereitstellung, den Energietransport und die Energieverwertung im normalen und insuffizienten Herzmuskel.

Das Herz wird neben Skelettmuskel, Nervengewebe, Knochen und Knorpel zu den relativ strahlenresistenten Geweben gezählt. Als strahlenresistent werden Gewebe bezeichnet, die erst bei Bestrahlungsdosen ab 5000 R angegriffen werden (Hamperl 1968).

Zollinger (1960) weist jedoch darauf hin, daß nach starker Strahlenbelastung durchaus histologische Veränderungen, wie scholliger Zerfall und interstitielle Fibrose, am Herzmuskel nachweisbar sind.

Untersuchungen von Morgenroth, Junge-Hülsing und Hauss (1967) an Ratten, sowie von Möllmann, Decker, Alfes und Reisch (1971) an Kaninchen zeigten deutlich die Veränderungen an der Herzmuskelzelle nach Bestrahlung.

Auch nach therapeutischer Röntgenbestrahlung ist von kardialen Komplikationen berichtet worden.

Während der Bestrahlung von Tumoren im Thoraxraum konnte Graeve (1953) bei zwei Patienten eine absolute Arrhythmie feststellen und bezog dies auf strahlenbedingte Beeinflussung des Erregungsleitungs-Systems.

Kolár (1971) zeigt in einer Übersicht der Strahlenfolgen am Herz, daß es zu Rhythmusstörungen, Pericarditis und Myocarditis nach Strahlenbehandlung intrathorakaler Prozesse kommen kann.

Schließlich fanden Buchelt und Löhr (1971) Konzentrationsänderungen im Nucleotidstoffwechsel nach Bestrahlung von isolierten, perfundierten Meerschweinchenherzen nach Langendorff.

Die Strahlenwirkung auf energiereiche Verbindungen ist an einigen Organen untersucht worden.

So konnten Bergeder und Hockwin (1960) nach Bestrahlung isolierter *M. sartorii* von Winterfröschen, sowie Mehnert, Waldschmidt und Streffer (1970) nach Ganzkörperbestrahlung von Mäusen den Einfluß von Röntgenstrahlen auf den Energiestoffwechsel des Skelettmuskels nachweisen.

Befunde am Skelettmuskel lassen sich jedoch mit Untersuchungen am Myocard nicht ohne weiteres vergleichen. Durch kombinierte Anwendung von Papierchromatographie und Radiophosphor gelang es Fleckenstein (1959) die physiologische Sonderstellung des Herzens hervorzuheben. Die Skelettmuskulatur besitzt zwar größere Vorräte an energiereichen Phosphaten, die Spaltung und Regeneration dieser Verbindungen verläuft im Myocard jedoch um ein Vielfaches rascher.

Im Hinblick auf den ATP-turnover steht das Myocard den parenchymatösen Organen, wie zum Beispiel Leber

und Milz, wesentlich näher.
Auf Bestrahlungsergebnisse an diesen Organen wird in der Diskussion noch näher eingegangen.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, welchen Einfluß Röntgenstrahlen auf den Energiestoffwechsel des Herzens haben, ob mögliche Veränderungen in Abhängigkeit zur Strahlendosis stehen und ob eine Zeitabhängigkeit der Veränderungen festzustellen ist.

Dazu werden Adenosintriphosphat, Kreatinphosphat, Adenosindiphosphat, Adenosinmonophosphat und anorganisches Phosphat nach lokaler Bestrahlung von Meer-schweinchenherzen mit steigender Strahlendosis von 1000 bis 10 000 R untersucht.

II. Methode

=====

Materialgewinnung

Die Versuche werden an 250-300 g schweren, weiblichen Meerschweinchen durchgeführt. Nach lokaler Bestrahlung der Herzen werden die Tiere durch Genickschlag getötet und aus den Carotiden entblutet.

Das Herz wird innerhalb weniger Sekunden aus dem Thorax exzidiert und sofort mit flüssiger Luft eingefroren.

Bestrahlung

Die Tiere werden am Müller RT 100 (85kV; 8mA; Filter 1,25mm Al; Rundtubus 2,5cm; Abstand 10cm) bestrahlt.

Die später angegebenen Strahlendosen beziehen sich auf die Oberflächendosis. Die Herddosis beträgt bei dieser Versuchsanordnung 50% der Oberflächendosis.

Gewebsbereitung

Unter mehrmaligem Nachgiessen von flüssiger Luft werden die Herzen mit dem Mörser pulverisiert und die so gewonnene Pulvermenge gewogen.

Die Enteiweißung erfolgt mit 6% Perchlorsäure. Nach vorsichtigem Auftauen auf 4°C wird im Potter (Elvehjem) für 30 sec. homogenisiert, anschließend das denaturierte Eiweiß abzentrifugiert.

Die Bestimmung der energiereichen Phosphate wird im klaren Überstand durchgeführt.

Enzymatische Bestimmung

Kreatinphosphat (KrP), Adenosintriphosphat (ATP),

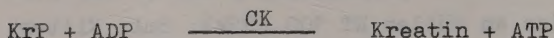
Adenosindiphosphat (ADP), Adenosinmonophosphat (AMP) und anorganisches Phosphat (Pa) werden im enzymatisch-optischen Test bestimmt.

Die Messungen erfolgen am Spektralphotometer (Eppendorf), nachdem die Lösungen eine Temperatur von 25°C erreicht haben.

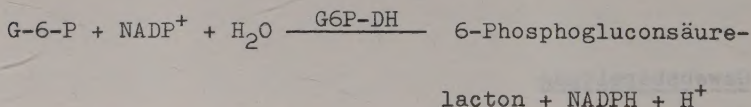
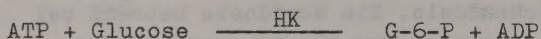
1. Bestimmung von KrP mit Creatin-Kinase (CK), Hexokinase (HK) und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH).

Creatin-Kinase katalysiert die Phosphatübertragung von KrP auf ADP.

Prinzip:



das so entstandene ATP wird mit Glucose, Hexokinase und G6P-DH weiter umgesetzt:



Pro Mol KrP wird so ein Mol NADPH gebildet. Meßgröße ist die bei 366nm gemessene Extinktionszunahme.

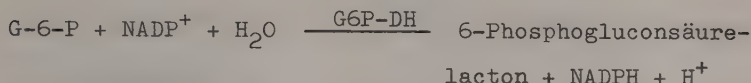
2. Bestimmung von ATP mit Hexokinase (HK) und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH).

Glucose wird mit ATP in Anwesenheit von Mg^{2+} durch Hexokinase zu Glucose-6-Phosphat (G-6-P) phosphoryliert. Dieses wird mit NADP^+ unter Katalyse von Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase zu 6-Phosphoglucon-

säure-lacton dehydriert.

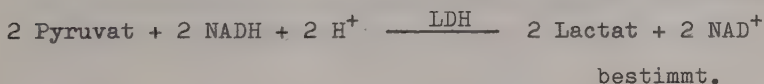
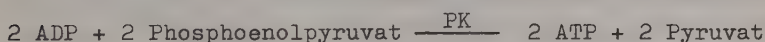
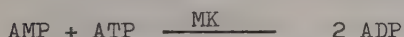
Hierbei entsteht pro Mol ATP ein Mol NADPH, welches an der Extinktion bei 366 nm gemessen wird.

Prinzip:



Auf eine Korrektur durch Bestimmung des Blut-ATP-Gehaltes konnte verzichtet werden, da die Vernachlässigung des Blut-ATP im Herzmuskel nur einen maximalen Fehler von 0,3% verursacht (Nägle 1970).

3. ADP und AMP werden im gleichen Bestimmungsansatz mit Myokinase (MK), Pyruvatkinase (PK) und Lactat-Dehydrogenase (LDH) nach dem Reaktionsprinzip:

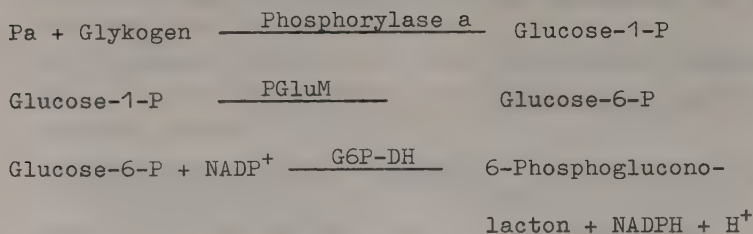


Die NADH-Abnahme, gemessen an der Extinktionsänderung bei 366 nm ist der AMP- und ADP-Menge proportional.

4. Bestimmung von Pa mit Phosphorylase a, Phosphoglucomutase (PGluM) und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH).

Das Verfahren zur Bestimmung von Pa beruht auf der

Phosphorolyse von Glykogen durch Phosphorylase a
nach dem Prinzip:



Die NADPH-Zunahme, gemessen an der Extinktions-
änderung bei 366 nm, ist der Pa-Menge proportional.

Um Störungen durch eventuellen Orthophosphat-Gehalt
der Reagentien auszuschließen, werden die Präparate
durch Dialyse bei + 4°C über Nacht gereinigt.

Berechnung

Um die Verdünnung der Proben durch die Vorbehandlung
zu berücksichtigen, müssen die errechneten Konzen-
trationen mit einem Verdünnungsfaktor F multipli-
ziert werden, der die verbrauchten Mengen an Per-
chlorsäure und K_2CO_3 enthält.

Der Faktor setzt sich wie folgt zusammen:

$$F = \frac{V_2 + V_4}{V_1 + V_3}$$

Hierbei ist: V_1 = Gewicht der Gewebsprobe

V_2 = V_1 + g Perchlorsäure zur Enteiweißung

V_3 = Volumen Perchlorsäure-Extrakt vor
Enteiweißung

V_4 = V_3 + ml K_2CO_3 -Verbrauch

Die errechneten Konzentrationen der energiereichen

Phosphate beziehen sich dann auf $\mu\text{Mol/g}$ Gewebe.

Alle zur enzymatischen Bestimmung verwendeten Chemikalien sind Handelspräparate von größtmöglichem Reinheitsgrad.

(weitere Einzelheiten s. Bergmeyer H.U., Methoden der enzymatischen Analyse).

Versuchsgruppen

Die Versuche werden in 3 Gruppen durchgeführt:

1. Kontrollen

Bestimmung der energiereichen Phosphate bei unbestrahlten, nicht narkotisierten Tieren.

2. Narkose

Die Bestrahlung erfolgt in Äther-Narkose. Deshalb ist eine zusätzliche Kontrollgruppe notwendig.

3. Bestrahlung

Bestimmung bei narkotisierten, bestrahlten Tieren jeweils 1h und 5h, bei anorganischem Phosphat 30 min. bis zu 8h nach Bestrahlung mit 1000 R, 3000 R, 6000 R und 10 000 R.

Statistische Auswertung

Aus den Einzelwerten jeder Versuchsgruppe wird der Mittelwert $\pm$ dem mittleren Fehler des Mittelwertes errechnet.

Die Anzahl der jeweiligen Einzelwerte wird mit n angegeben.

Zum Vergleich zweier Mittelwerte werden Signifikanzen mit dem t-Test nach "Student" ermittelt.

Als Grenze für einen signifikanten Unterschied wird ein p-Wert von 0,05 angesehen, das bedeutet der Unterschied ist mit einer Wahrscheinlichkeit von mehr als 95% nicht zufällig.

P-Werte unter 0,05 gelten als nicht signifikant (n.s.).

III. Ergebnisse

=====

1. Kontrollen

Zunächst werden die stationären Konzentrationen von KrP, ATP, ADP, AMP und Pa bei nicht narkotisierten, unbestrahlten Tieren bestimmt.

Wenn auch Untersuchungen vorliegen, nach denen der KrP-Gehalt des Herzmuskels um annähernd 50% niedriger sein soll als der ATP-Gehalt (Bing 1965), so muß doch festgestellt werden, daß der für KrP ermittelte Kontrollwert von $2,898 \pm 0,092$ uMol/g Gewebe im Vergleich mit Literaturangaben relativ niedrig ist (Bergmeyer, Isselhard, Moser).

Diese Tatsache ist wahrscheinlich methodisch bedingt, denn Untersuchungen von Thorn, Heimann, Mülterer und Gercken (1959), sowie von Isselhard und Merguet (1962) zeigen, daß gerade KrP zu den labilen Substanzen zu rechnen ist, deren Konzentrations-Bestimmung in hohem Maße von den gewählten Versuchsbedingungen abhängt. Die höchsten Werte wurden bei Sauerstoff-Beatmung der Tiere und einer Einfrierzeit des Gewebes von weniger als 1 sec. gefunden.

Dagegen wirkt sich die angegebene Versuchsanordnung auf den Gehalt der weiteren energiereichen Phosphate nicht nachteilig aus.

Der ATP-Kontrollwert von $4,351 \pm 0,042$ uMol/g Gewebe (n=26) stimmt mit den Angaben anderer Autoren gut überein (Bergmeyer, Isselhard, Fleckenstein, Moser).

Die Kontrollwerte von ADP und AMP betragen $0,418 \pm 0,017$ (n=20) und $0,232 \pm 0,012$ uMol/g Gewebe.

Für Pa wird eine Konzentration von $5,609 \pm 0,011$ uMol/g Gewebe (n=20) ermittelt.

Vergleichswerte für anorganisches Phosphat sind in der Literatur selten zu finden. Furchgott und De Gubareff (1958) geben für das Meerschweinchenherz einen Pa-Gehalt von $6,240 \pm 0,24$ an.

2. Narkose

Da die Bestrahlung der Meerschweinchenherzen in Äther-Narkose erfolgt, wird in einer weiteren Versuchsgruppe geprüft, ob die Narkotisierung der Tiere einen Einfluß auf die stationären Konzentrationen der energiereichen Phosphate hat.

Hierbei kann festgestellt werden, daß lediglich bei der Bestimmung von ADP ein signifikanter Abfall auf $0,340 \pm 0,015$ uMol/g Gewebe ($n=20$; $p < 0,005$) gegenüber der Kontrollgruppe zu registrieren ist, während bei allen anderen Verbindungen keine nennenswerten Veränderungen auftreten.

3. Bestrahlung

In dieser Gruppe werden die energiereichen Phosphate nach lokaler Bestrahlung der Herzen bestimmt.

Um festzustellen, ob mögliche Veränderungen in Abhängigkeit zu der Strahlendosis stehen, werden steigende Strahlendosen von 1000 bis 10 000 R gewählt.

An dieser Stelle sei nochmals betont, daß sich die angegebenen Dosen auf die Oberflächendosis beziehen, während die tatsächliche Herddosis nur 50% dieses Wertes entspricht.

Die Bestimmungen erfolgen für KrP, ATP, ADP und AMP jeweils 1h und 5h, für Pa 30 min. bis zu 8h nach Bestrahlung, da sich in Vorversuchen gerade bei anorganischem Phosphat zeitabhängige Veränderungen abzeichneten.

a. Kreatinphosphat (KrP)

Wie aus Tab. I zu ersehen ist, zeigen schon die Messungen 1h nach Bestrahlung mit nur 1000 R (n=16) einen signifikanten Abfall auf $2,363 \pm 0,09$ uMol/g ($p < 0,0005$).

Bei einer Dosis von 3000 R beträgt der Gehalt des Myocards an KrP $2,555 \pm 0,065$ (n=11; $p < 0,025$), bei 6000 R $2,518 \pm 0,0116$ (n=19; $p < 0,01$) uMol/g Gewebe.

Der niedrigste Wert findet sich mit $2,192 \pm 0,055$ uMol/g Gewebe ($p < 0,0005$) 1h nach Bestrahlung mit 10 000 R (n=16).

Auch nach 5h liegt die KrP-Konzentration noch deutlich unter dem Ausgangswert.

Die ermittelten Werte betragen bei Bestrahlung mit 1000 R $2,409 \pm 0,058$ (n=17; $p < 0,0005$) mit 3000 R $2,228 \pm 0,078$ (n=17; $p < 0,0005$) mit 6000 R $2,298 \pm$

$0,082$ (n=16; $p < 0,0005$) und bei einer Strahlendosis von 10 000 R $2,345 \pm 0,092$ (n=17; $p < 0,0005$) uMol/g Gewebe.

Eine Abhängigkeit von der Strahlendosis ist allerdings nicht eindeutig nachzuweisen, nach Erhöhung der Dosis über 1000 R sind die weiteren Veränderungen nicht mehr charakteristisch.

b. Adenosintriphosphat (ATP)

Auch auf die ATP-Konzentration des Myocards läßt sich eine eindeutige Strahlenwirkung aufzeigen.

Alle ermittelten Werte sind gegenüber dem Kontrollwert signifikant erniedrigt.

Nach Bestrahlung mit 1000 R werden nach 1h (n=17) $4,054 \pm 0,097$ ($p < 0,0025$), nach 5h (n=17) $3,822 \pm 0,067$ ($p < 0,0005$) uMol/g Gewebe gemessen.

Der deutlichste Abfall findet sich nach Bestrahlung

mit 3000 R (s. Tab. II). Hier ist die Konzentration nach 1h $3,798 \pm 0,075$ ($n=15$; $p < 0,0005$), nach 5h $3,707 \pm 0,064$ ($n=18$; $p < 0,0005$) $\mu\text{Mol/g}$ Gewebe.

1h nach Bestrahlung mit 6000 R ($n=19$) beträgt der ATP-Gehalt $3,836 \pm 0,052$ ($p < 0,0005$) nach 5h ($n=16$) $4,000 \pm 0,087$ ($p < 0,0005$) $\mu\text{Mol/g}$ Gewebe.

Für 10 000 R wird der 1h-Wert von $3,976 \pm 0,046$ ($n=16$; $p < 0,0005$) und der 5h-Wert von $3,801 \pm 0,090$ ($n=17$; $p < 0,0005$) $\mu\text{Mol/g}$ Gewebe ermittelt.

Wie auch bei der KrP-Bestimmung kann eine Abhängigkeit von der Strahlendosis oder eine Zeitabhängigkeit der Veränderungen nicht nachgewiesen werden.

c. Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosinmonophosphat (AMP)

Da ADP die einzige Substanz ist, bei der ein deutlicher Abfall nach Äther-Narkose festzustellen ist, wird hier eine Signifikanzprüfung zwischen den Gruppen "Kontrollen" und "Narkose" durchgeführt (s. Tab. III).

Die Werte nach Bestrahlung zeigen bei den 1h-Bestimmungen keine deutlichen Veränderungen, lediglich 5h nach Bestrahlung mit 3000 R ($n=18$) und 10 000 R ($n=17$) kann ein signifikanter Abfall auf $0,294 \pm 0,01$ ($p < 0,025$) bzw. $0,307 \pm 0,01$ ($p < 0,025$) $\mu\text{Mol/g}$ Gewebe ermittelt werden.

Für AMP sind die Ergebnisse nach Bestrahlung ebenso uncharakteristisch.

Bei den 1h-Werten zeigt nur die Bestrahlung mit 3000 R einen signifikanten Abfall auf $0,183 \pm 0,01$ $\mu\text{Mol/g}$ Gewebe ($n=15$; $p < 0,0005$).

Nach 5h beträgt der AMP-Gehalt bei einer Dosis von 3000 R ($n=18$) $0,169 \pm 0,01$ ($p < 0,0005$), bei 10 000 R ($n=18$) $0,188 \pm 0,01$ ($p < 0,0005$) $\mu\text{Mol/g}$ Gewebe.

Die anderen Bestimmungen zeigen keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe.

Allerdings muß betont werden, daß alle Werte nach Bestrahlung unter dem Ausgangswert liegen, der Gesamtgehalt des Di- und Monophosphats also auch erniedrigt ist.

d. Anorganisches Phosphat (Pa)

Die auffälligsten Ergebnisse nach Bestrahlung finden sich bei der Bestimmung von Pa.

Die Messungen 1h nach Bestrahlung mit nur 1000 R (n=18) zeigen einen signifikanten Anstieg auf $6,499 \pm 0,20$ uMol/g Gewebe ($p < 0,0005$).

Bei einer Dosis von 3000 R (n=18) steigt der Gehalt an anorganischem Phosphat auf $6,596 \pm 0,27$ ($p < 0,0005$), bei 6000 R (n=20) auf $7,327 \pm 0,22$ ($p < 0,0005$).

Ein weiterer Anstieg auf $8,670 \pm 0,46$ uMol/g Gewebe ($p < 0,0005$) wird 1h nach Bestrahlung mit 10 000 R (n=14) ermittelt.

Die Veränderungen der Pa-Konzentration ist also eindeutig dosisabhängig (s. Abb. I).

Daneben läßt sich, wie Abb. II zeigt, auch eine deutliche Zeitabhängigkeit feststellen. Um dies zu dokumentieren, werden die Ergebnisse nach Bestrahlung mit 6000 R graphisch dargestellt.

Während nach 30 min. der Gehalt des Myocards an anorganischem Phosphat am höchsten ist, fällt der Wert bei den Messungen nach 1, 2, 4 und 6h kontinuierlich ab, hat aber auch nach 8h den Kontrollwert noch nicht wieder erreicht.

Eine Übersicht über die wichtigsten strahlenbedingten Veränderungen zeigt die Abb. III.

Kreatinphosphat (KrP)

	1 h	s	5 h	s
Kontrollen	2,898 $\pm$ 0,092 (n = 26)			
Äther-Narkose	2,729 $\pm$ 0,097 (n = 20)	n.s.		
1000 R	2,363 $\pm$ 0,09 (n = 16)	p < 0,0005	2,409 $\pm$ 0,058 (n = 17)	p < 0,0005
3000 R	2,555 $\pm$ 0,065 (n = 11)	p < 0,025	2,228 $\pm$ 0,078 (n = 17)	p < 0,0005
6000 R	2,518 $\pm$ 0,116 (n = 19)	P < 0,01	2,298 $\pm$ 0,082 (n = 16)	p < 0,0005
10 000 R	2,192 $\pm$ 0,055 (n = 16)	p < 0,0005	2,345 $\pm$ 0,096 (n = 17)	p < 0,0005

Tab. I: KrP-Gehalt (μ Mol /g Gewebe) von Meerschweinchenherzen unter Kontrollbedingungen, nach Äther-Narkose ferner 1 und 5 Stunden nach Bestrahlung mit 1000, 3000, 6000 und 10 000 R.

Adenosintriphosphat (ATP)

	1 h	s	5 h	s
Kontrollen	4,351 $\pm$ 0,042 (n = 26)			
Äther-Narkose	4,216 $\pm$ 0,078 (n = 20)	n.s.		
1000 R	4,054 $\pm$ 0,097 (n = 17)	p < 0,0025	3,822 $\pm$ 0,067 (n = 17)	p < 0,0005
3000 R	3,798 $\pm$ 0,075 (n = 15)	p < 0,0005	3,707 $\pm$ 0,064 (n = 18)	p < 0,0005
6000 R	3,836 $\pm$ 0,052 (n = 19)	p < 0,0005	4,000 $\pm$ 0,087 (n = 16)	p < 0,0005
10 000 R	3,976 $\pm$ 0,046 (n = 16)	p < 0,0005	3,801 $\pm$ 0,090 (n = 17)	p < 0,0005

Tab. II: ATP-Gehalt (μ Mol /g Gewebe) von Meerschweinchenherzen unter Kontrollbedingungen, nach Äther-Narkose, ferner 1 und 5 Stunden nach Bestrahlung mit 1000, 3000, 6000 und 10 000 R.

Adenosindiphosphat (ADP)

	1 h	s	5 h	s
Kontrollen	0,418 $\pm$ 0,017 (n = 20)			
Äther-Narkose	0,340 $\pm$ 0,015 (n = 20)	p < 0,0005		
1000 R	0,357 $\pm$ 0,01 (n = 18)	n.s.	0,317 $\pm$ 0,015 (n = 17)	n.s.
3000 R	0,331 $\pm$ 0,01 (n = 15)	n.s.	0,294 $\pm$ 0,01 (n = 18)	p < 0,0025
6000 R	0,368 $\pm$ 0,012 (n = 19)	n.s.	0,316 $\pm$ 0,01 (n = 18)	n.s.
10 000 R	0,370 $\pm$ 0,018 (n = 15)	n.s.	0,307 $\pm$ 0,01 (n = 17)	p < 0,025

Tab. III: ADP-Gehalt ($\mu\text{Mol/g}$ Gewebe) von Meerschweinchenherzen unter Kontrollbedingungen, nach Äther-Narkose, ferner 1 und 5 Stunden nach Bestrahlung mit 1000, 3000, 6000 und 10 000 R.

Die Signifikanzprüfungen erfolgten hier zwischen der Gruppe "Äther-Narkose" und den Kontrollgruppen.

Adenosinmonophosphat (AMP)

	1 h	s	5 h	s
Kontrollen	0,232 $\pm$ 0,01 (n = 19)			
Äther-Narkose	0,236 $\pm$ 0,01 (n = 20)	n.s.		
1000 R	0,223 $\pm$ 0,01 (n = 18)	n.s.	0,223 $\pm$ 0,01 (n = 17)	n.s.
3000 R	0,183 $\pm$ 0,01 (n = 15)	p < 0,0005	0,169 $\pm$ 0,01 (n = 18)	p < 0,0005
6000 R	0,233 $\pm$ 0,01 (n = 19)	n.s.	0,219 $\pm$ 0,01 (n = 18)	n.s.
10 000 R	0,272 $\pm$ 0,01 (n = 18)	n.s.	0,188 $\pm$ 0,01 (n = 18)	p < 0,0005

Tab. IV: AMP-Gehalt ($\mu\text{Mol/g}$ Gewebe) von Meerschweinchenherzen unter Kontrollbedingungen, nach Äther-Narkose, ferner 1 und 5 Stunden nach Bestrahlung mit 1000, 3000, 6000 und 10 000 R.

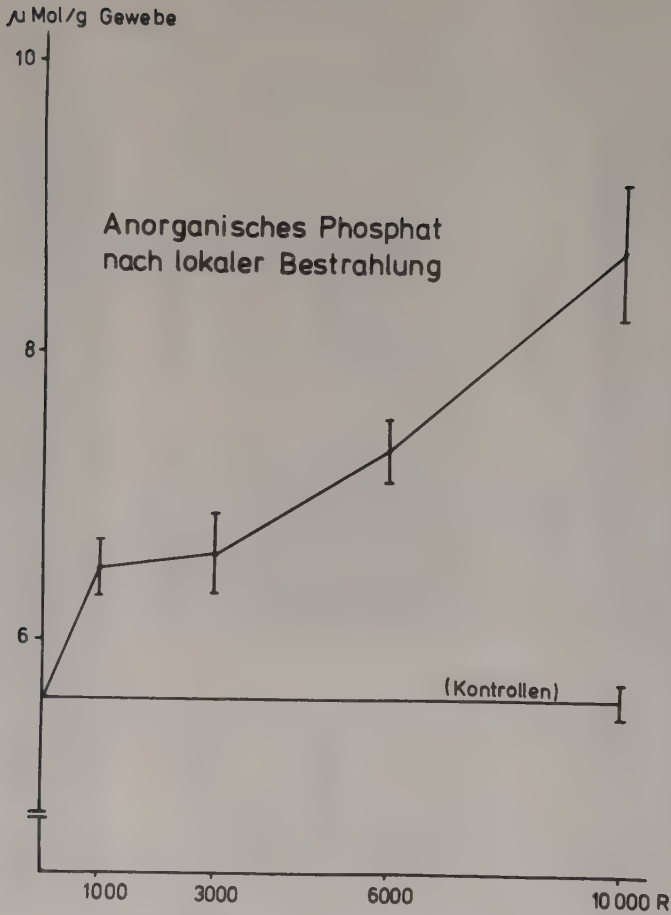


Abb. I : Anorganisches Phosphat unter Kontrollbedingungen sowie 1h nach Bestrahlung mit 1000, 3000, 6000 und 10 000 R.

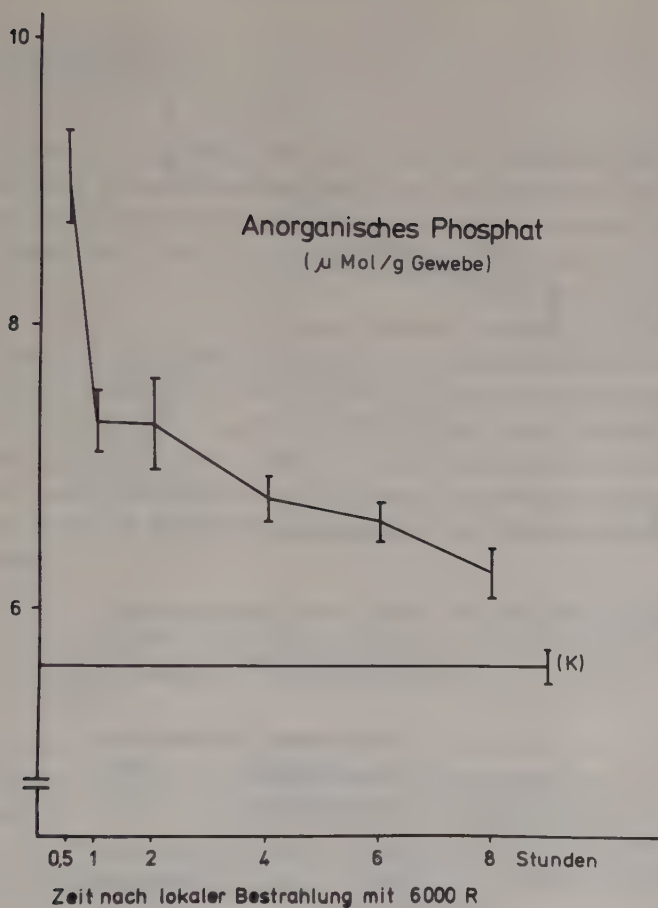


Abb. II : Anorganisches Phosphat unter Kontrollbedingungen sowie 30 min., 1h, 2h, 4h, 6h und 8h nach Bestrahlung mit 6000 R.

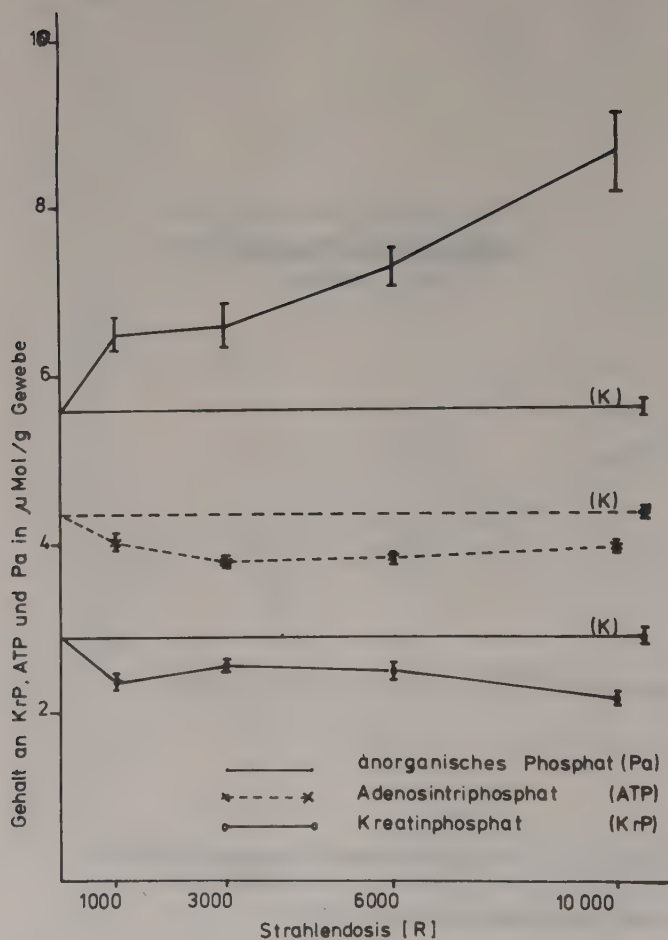


Abb. III : Kreatinphosphat, Adenosintri-phosphat und anorganisches Phosphat unter Kontrollbedingungen sowie 1h nach Bestrahlung mit 1000, 3000, 6000 und 10 000 R.

IV. Diskussion

=====

Untersuchungen über den Einfluß von Röntgenstrahlen auf den Energiestoffwechsel des Myocards sind bisher selten durchgeführt worden, denn der Herzmuskel wird allgemein zu den strahlenresistenten Geweben gezählt.

Doch neben den von einigen Autoren nachgewiesenen histologischen Veränderungen des Herzmuskels nach Strahlenbelastung (Morgenroth, Junge-Hülsing und Hauss; Möllmann, Decker und Reisch) wiesen schon Caster, Armstrong und Simonson (1957) darauf hin, daß mittels biochemischer Methoden Störungen im Myocardstoffwechsel auch ohne morphologische Veränderungen faßbar sind.

So fanden Buchelt und Löhr (1971) einen signifikanten Anstieg von KrP und ATP nach einseitiger Bestrahlung perfundierter Meerschweinchenherzen mit 1600 R.

Dagegen wurde am Skelettmuskel von Winterfröschen der Gesamtgehalt an energiereichen Phosphaten nach Bestrahlung mit 150 kR erniedrigt gefunden (Bergeder und Hockwin 1960). Das Ergebnis wurde als Beeinflussung energieverbrauchender Prozesse durch direkte Strahleneinwirkung gedeutet.

Zu ähnlichen Resultaten kommen Mehnert, Waldschmidt u. Streffer (1970). Nach Ganzkörperbestrahlung von Mäusen mit 690 bis 5000 R kam es im Skelettmuskel zu einem Abfall der KrP-Fraktion bei gleichzeitig spiegelbildlichem Anstieg von anorganischem Phosphat.

Nach Erhöhung der Strahlendosis über 2000 R konnten diese Konzentrations-Änderungen, die als Störung des transphorylierenden Schrittes zwischen ATP und KrP gewertet wurden, nicht verstärkt werden.

Bei dem Vergleich der Befunde am Skelettmuskel mit

den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit darf nicht außer Acht gelassen werden, daß außer der Sonderstellung des Myocards im Energiehaushalt die oben genannten Autoren teilweise andere Versuchsbedingungen gewählt haben. Entweder wurde mit sehr hoher Dosis bestrahlt, oder es wurde der Weg der Ganzkörperbestrahlung beschritten. Hierbei ist nicht auszuschließen, daß durch Veränderungen im Gesamtorganismus auch der lokale Stoffwechsel beeinflusst wird.

Die Übereinstimmungen der Resultate sind trotzdem bemerkenswert.

Auffällig an den eigenen Ergebnissen ist besonders, daß der KrP- und ATP-Gehalt des Myocards schon bei einer Oberflächendosis von nur 1000 R (entsprechend einer Herddosis von 500 R) signifikant erniedrigt ist.

Der strahlenbedingte Abfall von Kreatinphosphat ist wahrscheinlich noch ausgeprägter als diese Untersuchung zeigt, wenn man den methodisch bedingten niedrigen Ausgangswert berücksichtigt.

Ebenso charakteristisch ist der eindeutig dosisabhängige Anstieg von anorganischem Phosphat.

Interessant sind auch vergleichbare Bestrahlungsergebnisse an den parenchymatösen Organen, die dem Herzmuskel im Hinblick auf den Energiestoffwechsel näher stehen als der Skelettmuskel (Fleckenstein).

Mehnert u. Mitarbeiter (1970) fanden nach Ganzkörperbestrahlung von Mäusen mit 690 R eine Abnahme des ATP-Gehaltes der Leber um 20% bei parallelem Anstieg von anorg. Phosphat.

Nach Totalbestrahlung von Ratten mit steigender Dosis

von 800 bis 20 000 R kam es zu einer Erniedrigung der ATP-Fraktion in Leber, Milz und Thymus (Maass 1964). Eine Dosisabhängigkeit der ATP-Abnahme konnte ebenso wie in der vorliegenden Arbeit nicht gefunden werden.

Besonders in Thymus und Milz veränderten sich die Ergebnisse oberhalb einer "Schwellendosis" von 800 R nur noch unwesentlich.

An dieser Stelle wirft sich nun die Frage auf, wo der Angriffspunkt der Röntgenstrahlen zu suchen ist.

Berücksichtigt man die von Wollenberger (1947) erwähnte Einteilung des Energiestoffwechsels in Energiebereitstellung und Energieverwertung, so lassen die gefundenen Ergebnisse, strahlenbedingte Erniedrigung der KrP- und ATP-Konzentration sowie dosisabhängiger Anstieg von anorganischem Phosphat, zwei mögliche Deutungen zu.

Einmal kann auf der Bereitstellungsseite die Syntheserate der energiereichen Phosphate durch Strahlenschädigung der Zellorganellen erniedrigt sein.

In erster Linie wäre an eine Beeinträchtigung der oxydativen Phosphorylierung durch Veränderungen an der Mitochondrien-Membran, deren Intaktheit für die Produktion energiereicher Verbindungen unerlässlich ist (Karlson 1970) zu denken.

Hierfür sprechen histologische Veränderungen an der Herzmuskelzelle nach Bestrahlung, wie sie zum Beispiel von Novi (1969) beschrieben wurden.

Zum anderen könnte auf der Verwertungsseite die hydrolytische Spaltung der energiereichen Phosphate durch strahlenbedingte Aktivierung von Enzymen erhöht sein.

Diese Möglichkeit würde durch die Untersuchung von

Jonek und Kosmider (1963) erhärtet, die in den ersten Tagen nach Totalbestrahlung sowie nach Lokalbestrahlung von Meerschweinchenherzen mit 400 R eine Aktivitätssteigerung der ATP'ase und anderer Enzyme finden.

Allerdings kann der erhöhte Energieumsatz nicht nur auf die vermehrte KrP- und ATP-Spaltung beschränkt bleiben, denn auch der Gesamtgehalt von Adenosindi- und Adenosinmonophosphat wurde nach Bestrahlung erniedrigt gefunden.

V. Zusammenfassung

=====

Untersucht wird der Gehalt einiger Phosphatverbindungen im Meerschweinchenmyocard mit enzymatisch-optischer Methode.

1. Unter Kontrollbedingungen:

Die ermittelten Normalwerte betragen unter der angegebenen Versuchsanordnung für KrP: $2,898 \pm 0,092$, ATP: $4,351 \pm 0,042$, ADP: $0,418 \pm 0,017$, AMP: $0,232 \pm 0,01$ und für Pa: $5,609 \pm 0,11$ $\mu\text{Mol/g}$ Gewebe.

2. Nach Äther-Narkose:

Die Narkotisierung der Tiere mit Äther hat nur auf die ADP-Konzentration einen Einfluß, alle anderen Substrate verändern sich nur unwesentlich.

3. In den ersten Stunden nach Lokalbestrahlung der Herzen:

Der Gesamtgehalt des Myocards an energiereichen Phosphaten sinkt nach Bestrahlung charakteristisch ab.

Die KrP- und ATP-Fraktion ist schon 1h nach Bestrahlung mit einer Oberflächendosis von nur 1000 R signifikant erniedrigt, eine Dosisabhängigkeit läßt sich nicht nachweisen.

Auch nach 5h sind alle ermittelten Ergebnisse noch deutlich unter dem Ausgangswert.

Das Verhalten von anorganischem Phosphat ist dagegen deutlich dosisabhängig. Die Pa-Konzentration steigt mit Erhöhung der Strahlendosis kontinuierlich an. Die Ergebnisse nach Bestrahlung mit 6000 R zeigen zudem eine Zeitabhängigkeit. Der höchste Wert wird nach 30 min. gemessen, in den folgenden Stunden kommt es

dann zu einem Rückgang der Konzentration, aber auch nach 8h ist der Ausgangswert noch nicht wieder erreicht.

Mit der gewählten Methode gelingt es, strahlenbedingte Veränderungen im Energiestoffwechsel des Herzmuskels eindeutig nachzuweisen, den Angriffspunkt der Röntgenstrahlen genau zu lokalisieren ist jedoch nicht möglich. Ob eine Beeinflussung der Energiebereitstellung oder ein erhöhter Energieverbrauch im Vordergrund steht, wurde diskutiert.

Literatur
=====

- 1) BERGEDER, H. D., D. HOCKWIN
Änderungen des Sauerstoffverbrauchs isolierter
Froschmuskeln nach Röntgenbestrahlung
Naturwissenschaften 47 (1960), 161
- 2) BERGEDER, H. D., D. HOCKWIN
Beeinflussung des Phosphatstoffwechsels isolierter
Muskeln durch Röntgenbestrahlung
Strahlentherapie 113 (1960), 207
- 3) BERGMAYER, H. U.
Methoden der enzymatischen Analyse
2. Auflage Verlag Chemie, Weinheim 1970
- 4) BING, R. J.
Cardiac metabolism
Physiol. Rev. 45 (1965), 171
- 5) BUCHELT, L., E. LÖHR
Untersuchungen des Nucleotidstoffwechsels am
isolierten, perfundierten Meerschweinchenherzen
unter Bestrahlung
Strahlentherapie 141 (1971), 604
- 6) BUCHELT, L., E. LÖHR
Stoffwechseleränderungen und Elektrolytverschie-
bungen am isolierten, perfundierten Meerschweinchen-
herzen unter Bestrahlung und ihre Beeinflussung durch
Oxyfedrin
IN: E. GERLACH, K. MOSER (Hrsg): Wirkungsweise von
Oxyfedrin, 115, F.-K. Schattauer, Stuttgart-
New York 1972

- 7) CARLSON, F., A. SIGER
The mechanochemistry of muscular contraction
Journ. gen. Phys. 44 (1960), 33
- 8) CASTER, W. O., ARMSTRONG, W. D., E. SIMONSON
Changes in the cardiovascular system following
total body x-irradiation
Americ. Journ. Physiol. 188 (1957), 169
- 9) FLECKENSTEIN, A., J. JANKE, E. GERIACH
Konzentration und Turnover der energiereichen
Phosphate des Herzens nach Studien mit Papier-
chromatographie und Radiophosphor
Klin. Wschr. 37 (1959), 451
- 10) FLECKENSTEIN, A., J. DÖRING, H. KAMMERMEIER
Myocardstoffwechsel und Insuffizienz
Ärzt. Forschung 21 (1967), 1
- 11) FLECKENSTEIN, A.
Experimentelle Pathologie der akuten und
chronischen Herzinsuffizienz
Verh. dtsh.Ges. Kreisl.-Forsch. (1968), 15
- 12) FURCHGOTT, R. F., T. DE GUBAREFF
The high energy phosphate content of cardiac
muscle under various experimental conditions
which alter contractile strength
Journ. Pharmac. exp. Ther. 124 (1958), 203
- 13) GRAEVE, E.
Rhythmusstörungen des Herzens durch therapeu-
tische Röntgenbestrahlung
Strahlentherapie 92 (1953), 444

- 14) GAWEHN, K.
Bestimmung von anorg. Phosphat
in: Bergmeyer, H.U., Methoden der enzym. Analyse
2. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim 1970, 2156

- 15) HAMPERL, H.
Lehrbuch der allg. Pathologie und der pathol.
Anatomie
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
28. Aufl. 1968

- 16) HESS, B., K. BRAND
Zell- und Gewebsaufschluss
in: Bergmeyer, H.U., Methoden der enzym. Analyse
2. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim 1970, 365

- 17) HOCHREIN, H., J. DÖRING
Die energiereichen Phosphate des Myocards bei
Variation der Belastungsbedingungen
Pflügers Arch. ges. Physiol. 271 (1960), 548

- 18) HOCHREIN, H.
Kreatinphosphatstoffwechsel bei Druck-Volumen-
belastung des Herzens
Verh. dtsch.Ges. Kreisl.-Forsch. 34 (1968), 34

- 19) ISSELHARD, W., H. MERGUET
Metabolite des Glykolyse-Cyclus und des Adenyl-
phosphokreatin-Systems im schlagenden und durch-
bluteten Warmblüterherzen unter verschiedenen
Versuchsbedingungen
Pflügers Arch. ges. Physiol. 276 (1962), 211

- 20) JAWOREK, D., W. GRUBER, H. U. BERGMAYER
Bestimmung von Adenosindi- und Adenosinmono-
phosphat
in: Bergmayer, H.U., Methoden der enzym. Analyse
2. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim 1970, 2051
- 21) JONEK, J., St. KOSMIDER
Histochemische Untersuchungen über das Verhalten
einiger Enzyme im Herzmuskel nach Ganzkörper-
bestrahlung sowie nach Lokalbestrahlung der Herz-
gegend
Strahlentherapie 122 (1963), 198
- 22) KAMMERMEIER, H., H.J. DÖRING
Experimentelle Myocardinsuffizienz infolge
ungenügender Utilisation von energiereichen
Phosphaten
Pflügers Arch. ges. Physiol. 281 (1964), 102
- 23) KARLSON, P.
Spezielle biochemische Funktionen einiger Organe
in: Lehrbuch der Biochemie, G. Thieme Verlag
Stuttgart 1970
- 24) KRAUSE, E. G., A. WOLLENBERGER
Über die Aktivität der Phosphorylase, die Glyko-
lyserate und das Verhalten des Phosphokreatins
und Orthophosphats im Myocard des Meerschwein-
chens bei Kreislaufstillstand
Acta. biol. med. germ. 16 (1966), 595
- 25) KOLAR, J.
Strahlenfolgen an Herz und großen Gefäßen
Med. Klinik 66 (1971), 661

- 26) LAMPRECHT, W., P. STEIN, F. HEINZ, H. WEISSER
Bestimmung von Kreatinphosphat
in: Bergmeyer, H.U., Methoden der enzym. Analyse
2. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim 1970, 1729
- 27) LAMPRECHT, W., I. TRAUTSCHOLD
Bestimmung von Adenosintriphosphat
in: Bergmeyer, H.U., Methoden der enzym. Analyse
2. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim 1970, 2024
- 28) MAASS, H., M. TIMM
Der Energiestoffwechsel in verschiedenen Organen
der Ratte nach Ganzkörperbestrahlung mit verschie-
denen Strahlendosen
Biophysik 1 (1964), 334
- 29) MEHNERT, F., M. WALDSCHMIDT, Chr. STREFFER
Gehalt einiger Phosphatverbindungen in der
Skelettmuskulatur weißer Mäuse nach Ganzkörper-
bestrahlung
Strahlentherapie 139 (1970), 506
- 30) MÖLLMANN, H., S. DECKER, H. ALFES, J. REISCH
Ultrastrukturelle Veränderungen am Kaninchen-
herzen nach kurzzeitiger hochdosierter ^{60}Co -
Ganzkörperbestrahlung
Strahlentherapie 141 (1971), 451
- 31) MORGENROTH jr., K., G. JUNGE-HÜLSING, W. H. HAUSS
Über Veränderungen an Rattenherzen nach gezielter
Röntgenbestrahlung
Strahlentherapie 133 (1967), 610

- 32) MOSER, K., A. LUJF, J. SUKO
Enzymaktivitäten energiereicher Phosphate und
Noradrenalingehalt im isolierten ischämischen
Meerschweinchenherzen
Zeitschr. ges. exper. Med. 147 (1968), 268
- 33) NÄGLE, S.
Die Bedeutung von Kreatinphosphat und Adenosin-
triphosphat im Hinblick auf Energiebereitstellung
-transport und -verwertung im normalen und in-
suffizienten Herzmuskel
Klin. Wschr. 48 (1970), 332
- 34) NÄGLE, S.
Regelprobleme im Energiestoffwechsel des Herz-
muskels
Klin. Wschr. 48 (1970), 1075
- 35) NOVI, A.M.
Effects of low irradiation doses on the ultra-
structure of the rat myocardium
Virchows Arch. Abt. B 2 (1969), 24
- 36) THORN, W., J. HEIMANN, B. MÜLDERER, G. GERCKEN
Herzstoffwechsel in Abhängigkeit von der Ver-
suchsanordnung, Gewebsgewinnung auf anoxischer
Belastung
Pflügers Arch. ges. Physiol. 269 (1959), 214
- 37) WOLLENBERGER, A.
On the energy-rich phosphate supply of the
failing heart
Americ. Journ. Physiol. 150 (1947), 733

38) ZOLLINGER, H. U.

Radio-Histologie und Radio-Histo-Pathologie
(1960) in: Handbuch des allg. Pathologie Bd.X/1
220, Berlin-Göttingen-Heidelberg

39) ZOLLINGER, H. U.

Strahlenwirkungen
in: Path. Anatomie (1971), G. Thieme Verlag, Stuttgart

Lebenslauf

Am 14. November 1948 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. med. K.H. Köhler und seiner Ehefrau Ruth, geb. Weckesser in Marburg a. d. Lahn geboren.

In Marburg besuchte ich die Freie Waldorfschule bis zum Abitur im Februar 1968. Zum Wintersemester 1968/69 begann ich das Studium der Medizin an der Philipps-Universität in Marburg und legte dort am 5. April 1972 die Ärztliche Vorprüfung, am 6. August 1975 die Ärztliche Prüfung ab.

Seit dem 1. Oktober 1975 arbeite ich als Medizinal-Assistent an der Medizinischen-Universitätsklinik in Marburg.

Meine Marburger Lehrer waren:

Prof.Dr.H. Arndt, Prof.Dr.R. Buchholz, Prof.Dr.G.
Exner, Prof.Dr.H.C.Friedrich, Prof.Dr.Dr.E.H. Graul,
Prof.Dr.H. Hamelmann, Prof.Dr.H.Hensel, Prof.Dr.E.
Herrmann, Prof.Dr.F. Heß, Prof.Dr.W. Hort, Prof.Dr.
H. Jakob, Prof.Dr.P.Karlson, Prof.Dr.D. Klaus, Prof.
Dr.F. Linneweh, Prof.Dr.D. Maroske, Prof.Dr.G.A. Martini,
Prof.Dr.G. Petry, Prof.Dr.M. Reim, Prof.Dr.G. Rodeck,
Prof.Dr.P. Schmitz-Moormann, Prof.Dr.R. Siegert, Prof.
Dr.U. Willenbockel.

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel: "Untersuchung über den Einfluß von Röntgenstrahlen auf den Gehalt einiger Phosphatverbindungen im Meerschweinchenmyocard" in der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Röntgendiagnostik unter Leitung von Prof.Dr.F. Heß mit Unterstützung durch Dr.R.Prignitz ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Marburg, den 2.12.1975

